



JPW

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

APPLICANT(S): SALVI, Annibale et al. EXAMINER: SACKEY, Ebenezer O

SERIAL NO.: 10/698,451 GROUP ART UNIT: 1626

FILED: November 3, 2003 ATTORNEY DOCKET No.: P-6320-US

FOR: BASIC SALT OF THIOCTIC ACID WITH L-CARNITINE;

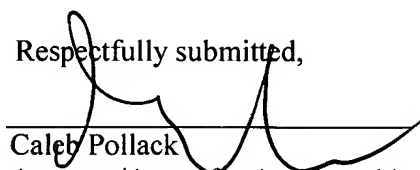
Commissioner for Patents
P. O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

SUBMISSION OF CERTIFIED PRIORITY DOCUMENT

Sir:

Applicant(s) hereby submits a certified copy of the Italian Application No. MI2003A000831 filed April 22, 2003 for the above identified patent application.

Respectfully submitted,


Caleb Pollack
Attorney/Agent for Applicant(s)
Registration No. 37,912

Dated: May 4, 2006

Pearl Cohen Zedek Latzer LLP.
1500 Broadway, 12th Floor
New York, New York 10036
Tel: (646) 878-0800
Fax: (646) 878-0801

~~G. SYRACI~~

REG. A

22/04/2003

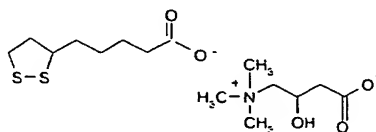
DATA DI RILASCIO / /

B. TITULO

Sale dell'acido tiottico con la L-carnitina avente formula:



in cui A è

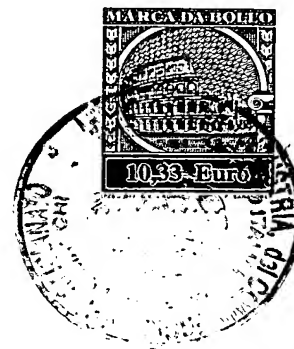


in cui Y è catione di un metallo alcalino, di un metallo alcalino terroso oppure è un gruppo ammonico quaternario ,

$X \text{ è } A \text{ o } OH^-$,

x è uguale a 0 quando Y è il catione di un metallo alcalino o un gruppo ammonico quaternario e uguale a 1 quando Y è un metallo alcalino terroso.

M. DISEGNO



Descrizione dell'invenzione industriale dal titolo :

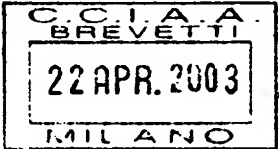
"Sale basico dell'acido tiottico con la L-carnitina"

a nome di: LABORATORIO CHIMICO INTERNAZIONALE S.p.A.

con sede in: MILANO

Inventori designati: SALVI Annibale, VILLANI Flavio, NARDI Antonio,

DE ANGELIS Bruno

Depositata il  con il n°
* * * * *

MI 2003 A 000831

CAMPO DELL'INVENZIONE

La presente invenzione si riferisce ad un nuovo sale dell'acido tiottico con la L-carnitina e ad un procedimento per la sua preparazione.

STATO DELL'ARTE

La L-carnitina è un metabolita mitocondriale che svolge un ruolo fondamentale nel metabolismo ossidativo degli acidi grassi.

Questa molecola, grazie alla capacità di aumentare la disponibilità energetica delle cellule, trova numerose applicazioni sia come principio attivo farmaceutico che come integratore dietetico. La L-carnitina viene utilizzata, ad esempio, come coadiuvante nella cura delle cardiomiopatie e delle malattie cardiovascolari ischemiche, come ricostituente e, negli atleti, per migliorare la funzionalità muscolare.

L'utilizzo della L-carnitina in associazione con un antiossidante ed in particolare con l'acido tiottico è particolarmente vantaggiosa in quanto permette di ottenere un aumento nel metabolismo cellulare senza incorrere in un concomitante aumento nella produzione di specie reattive dell'ossigeno.



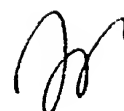
Tuttavia, la somministrazione di questi due principi attivi in unità di dosaggio separate non è agevole per il paziente, anche alla luce del fatto che per entrambi sono necessarie più somministrazioni durante la giornata.

Allo scopo di risolvere questo problema nel brevetto francese per medicamento numero 4512 M è stata proposta la somministrazione di un sale acido tra la L-carnitina e l'acido tiottico. Tuttavia, nel brevetto non viene dato alcun esempio di procedimento di preparazione di tale sale. In realtà, come la richiedente ha dimostrato negli esempi da 4 a 6 che seguono, la forma acida descritta in questo documento non può essere preparata.

Una ulteriore soluzione al suddetto problema è stata proposta dal brevetto statunitense US5,916,912 in cui la L-carnitina e l'acido tiottico sono contenuti nella stessa unità di dosaggio. Tuttavia, l'unica forma di realizzazione esemplificata in questo brevetto prevede la presenza di entrambi i principi attivi in forma acida, che porta a problemi sia di biodisponibilità che di tollerabilità. Inoltre, la realizzazione di una tale forma farmaceutica presenta problemi anche dal punto di vista tecnico-farmaceutico. Infatti, poiché la perfetta miscelazione tra L-carnitina e Acido tiottico è difficilmente ottenibile, si ottiene una variabilità nel rapporto ponderale e nel titolo dei due principi attivi in unità farmaceutiche dello stesso lotto.

SOMMARIO DELL'INVENZIONE

La richiedente ha ora trovato un sale della L-carnitina con l'acido tiottico che permette la somministrazione combinata dei due principi attivi senza

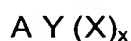


incorrere nei problemi sopra esposti.

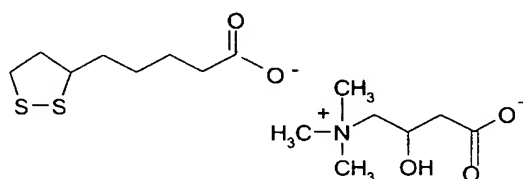
La presente invenzione si riferisce pertanto ad un sale basico della L-carnitina con l'acido tiottico ed a composizioni farmaceutiche e integratori dietetici che lo comprendono. La presente invenzione si riferisce inoltre ad un procedimento per la preparazione del suddetto sale.

DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELL'INVENZIONE

Oggetto della presente invenzione è un sale avente formula:



in cui A è



in cui Y è catione di un metallo alcalino, di un metallo alcalino terroso oppure è un gruppo ammonico quaternario ,

X è A o OH⁻,

x è uguale a 0 quando Y è il catione di un metallo alcalino o un gruppo ammonico quaternario e uguale a 1 quando Y è un metallo alcalino terroso.

Il sale dell'invenzione comprende l'acido tiottico in forma racema oppure in forma otticamente attiva, come acido R(+)-tiottico, o S(-)tiottico. L'acido tiottico in forma racema o otticamente attivo in forma R(+) o S(-) è disponibile in commercio oppure può essere preparato secondo le

tecniche descritte rispettivamente in WO0230917, WO0230918 e WO0230919 a nome della stessa richiedente.

La L-carnitina e l'acido tiottico quando vengono somministrati come sale basico secondo la presente invenzione presentano una elevata biodisponibilità.

La presente invenzione si riferisce inoltre ad una composizione farmaceutica e ad un integratore dietetico comprendente come sostanza attiva un sale secondo l'invenzione insieme ad adatti eccipienti e/o diluenti.

Un ulteriore oggetto della presente invenzione è un procedimento per la preparazione del suddetto sale comprendente i seguenti stadi:

- a) si prepara una soluzione di un sale alcalino, alcalino terroso o ammonico quaternario della L-carnitina in un alcol C_1-C_5 lineare o ramificato, preferibilmente metanolo, detta soluzione avendo una concentrazione in L-carnitina compresa tra 10% e 30% p/v,
- b) si aggiunge lentamente la soluzione dello stadio a) ad una soluzione di acido tiottico, avente una concentrazione compresa tra il 5% e il 15%, in un solvente scelto tra chetoni con p.e. superiore a 75°C, esteri con p.e. superiore a 75°C, acetonitrile e alcoli lineari o ramificati aventi un numero di atomi di carbonio superiore a 3, e
- c) si isola il sale di formula (I).

L'intervallo di concentrazioni indicato nello stadio (a) del processo oggetto della presente invenzione è critico. Infatti impiegando



A handwritten signature in black ink, consisting of stylized, flowing letters.

concentrazioni più elevate del 30% la L-carnitina gocciolata nel batch contenente l'acido tiottico precipita direttamente senza formare il sale, mentre impiegando soluzioni più diluite del 10%, si ha una perdita considerevole in produttività.

Preferibilmente, nella miscela ottenuta nello stadio b) l'acido tiottico e la L-carnitina sono tra loro in un rapporto molare compreso tra 0.85 e 1.15.

Secondo un'applicazione particolarmente preferita lo stadio c) comprende le seguenti fasi operative:

- i) si rimuove parzialmente il solvente in cui è stata disciolta la L-carnitina per distillazione sottovuoto;
- ii) si aggiunge lo stesso solvente in cui è stato disciolto l'acido tiottico, preferibilmente in quantità necessaria per sostituire il solvente rimosso nello stadio i) ;
- iii) si raffredda a temperatura compresa tra 0 e 30°C e si lascia sotto agitazione fino a precipitazione completa; e
- iv) si separa il precipitato ottenuto.

Preferibilmente, dopo lo stadio iv) il precipitato viene lavato per eliminare eventuali impurezze ed essiccato.

L'invenzione verrà meglio illustrata dagli esempi sperimentali che seguono, che non hanno tuttavia alcuno scopo limitativo della portata dell'invenzione

ESEMPI

Esempio 1

50,5 g (0.245 mol) di acido tiottico vengono disciolti in 750 ml di metiletilchetone a 20-25°C.



Si aggiunge per gocciolamento in 15-20 minuti una soluzione di 15,5 g di idrossido di potassio in pastiglie (0.249 mol) e 39,5 g (0,245 mol) di L-carnitina in 200 ml di alcol metilico.

Al termine del gocciolamento si scalda la soluzione a 30°-35°C e si distilla il solvente a pressione ridotta fino a raggiungere un volume interno di 330-350 ml (pari a circa 1/3 del volume iniziale).

A metà circa della distillazione ha inizio la precipitazione del prodotto.

Al termine della distillazione si aggiungono 600 ml di metiletilchetone e si lascia in agitazione a 25°-30° C per 30 minuti.

Si raffredda la miscela a 0.5°C e si mantiene a quella temperatura per 1 ora.

Il solido viene filtrato, lavato con 200 ml di metil-etil-chetone e seccato sottovuoto a 50°C per 24 ore.

Si ottengono 77 g di sale tiottico-carnitina-potassio avente purezza, misurata mediante HPLC, del 98%.

Il prodotto ottenuto è stato caratterizzato mediante analisi H^1 -NMR e di MASSA.

Analisi H^1 -NMR

δ NMR:

4.51 ppm, 1H, m (-CH(OH)-, carnitina); 3.68 ppm, 1H, m (-CH(S)-, tiottico); 3.38 ppm, 2H, m (-N-(CH₃)₃-CH₂-, carnitina) 3.18 ppm, 2H, m (metilene in posizione 2 dell'anello dell'acido tiottico) 3.18 ppm, 9H, s (-N-(CH₃)₃-CH₂-, carnitina); 2.45 ppm, 1H, m (uno dei 2 atomi di idrogeno in posizione 3 dell'anello dell'acido tiottico); 2.39 ppm, 2H, dd (-CH₂-COO⁻, carnitina); 2.14, 2H, t (CH₂-(COOH) acido tiottico); 1.96 ppm, 1H,



m (uno dei due atomi di idrogeno in posizione 3 dell'anello dell'acido tiottico), 1.3-1.8 ppm, 6H, m ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, acido tiottico).

Massa

Si osservano i seguenti picchi:

206 (m/e): picco molecolare del tiottico

161 (m/e): picco molecolare della Carnitina

ESEMPIO 2

10,1 g (0,049 ml) di acido tiottico vengono disciolti in 150 ml di metiletilchetone a 20-25°C.

Si aggiungono per gocciolamento in 15-20 minuti una soluzione di 8,9 g di metilato sodico al 30% (0.049 ml) e 7.9 g (0.049 ml) di L-carnitina in 40 ml di alcol metilico.

Al termine del gocciolamento si scalda la soluzione a 30-35°C e si distilla il solvente a pressione ridotta fino a raggiungere un volume interno di circa 100 ml (pari alla metà del volume iniziale).

Durante la distillazione si ha precipitazione del prodotto.

Al termine della distillazione si aggiungono 100 ml di metil-etil-chetone e si lascia in agitazione a 25°-30°C per 30 minuti.

Il solido viene filtrato, lavato con 60 ml di metil-etil-chetone e seccato sotto vuoto a 50°C per 24 ore.

Si ottengono 16 g di sale tiottico-carnitina-sodio caratterizzato mediante analisi TLC e HPLC. Il prodotto ottenuto risultava avere una purezza, valutata mediante analisi HPLC, pari al 97,6 %.

ESEMPIO 3.

100g di Acido tiottico vengono sciolti in 1300 ml di metil-etil-chetone ad

una temperatura di 17°C. Si aggiungono in 5 minuti per gocciolamento 78 g di L-carnitina e 29,5 g di idrossido di potassio sciolti in 300 ml di metanolo. Dopo avere mantenuto in agitazione la soluzione per 5 minuti si rimuove la metà del solvente tramite distillazione sotto vuoto senza superare i 35°C in caldaia. Al termine della distillazione si gocciolano 400 ml di metil-etil-chetone in 30 minuti a 20°C. La risultante sospensione viene raffreddata fino a 15°C e mantenuta a tale temperatura per 2 ore. Il precipitato formatosi viene filtrato in atmosfera inerte lavando il pannello con 200 ml di metil-etil-chetone. Si ottengono 370 g di solido giallino che vengono seccati in stufa da vuoto a 40°C per 20 ore, ottenendo quindi 122 g di prodotto secco.

Il prodotto ottenuto presenta un titolo HPLC in Acido tiottico pari a 51,6% (teorico 50,8%). Inoltre il pH di una soluzione acquosa al 10% del prodotto ottenuto è pari a 8,14.

ESEMPIO 4

28 g di acido tiottico, 22 g di L-carnitina e 150 ml di metanolo vengono agitati ad una temperatura di 20-25°C fino a soluzione completa. Il solvente viene rimosso tramite distillazione sotto vuoto ad una temperatura inferiore a 40°C fino ad ottenere un residuo oleoso e denso di colore giallo (52 g). Il residuo viene ripreso con 200 ml di acqua senza riuscire ad ottenere una soluzione completa; nella soluzione si separa un grosso agglomerato gommoso (polimero dell'acido tiottico).

ESEMPIO 5

28 g di acido tiottico, 22 g di L-carnitina e 150 ml di metanolo vengono agitati fino a soluzione completa. Il solvente viene rimosso tramite



distillazione sotto vuoto ad una temperatura inferiore a 40°C fino ad ottenere un residuo oleoso e denso di colore giallo. Il residuo viene ripreso con 200 ml di acetone e lasciato in agitazione per un'ora. La risultante sospensione viene filtrata e si ottengono 23 g di prodotto umido (solido bianco)

L'analisi TLC rivela che il prodotto ottenuto è la L-carnitina mentre il tiottico è assente.

Le acque madri della filtrazione, di colore giallo, vengono concentrate fino a residuo, ottenendo 30 g di olio denso.

L'analisi TLC rivela che il residuo oleoso è l'acido tiottico.

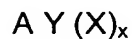
ESEMPIO 6

19.5 g di L-carnitina vengono sciolti in 100 ml di metanolo. La soluzione ottenuta viene gocciolata in 25 minuti in una soluzione di 25 g di acido tiottico in 190 ml di metil-etil-chetone ed agitati ad una temperatura di 10-15°C. Dopo avere mantenuto in agitazione la soluzione per 15 minuti si rimuovono i 2/3 del solvente tramite distillazione sotto vuoto senza superare i 35°C in caldaia. Al termine della distillazione si gocciolano 300 ml di metil-etil-chetone in 15 minuti a 20°C. La risultante sospensione viene raffreddata in 3 ore fino a 3°C e poi filtrata in atmosfera inerte lavando il solido con 100 ml di metil-etil-chetone. Si ottengono 15,1 g di solido bianco che vengono seccati in stufa da vuoto a 40°C per 20 ore, ottenendo 13,8 g di prodotto secco.

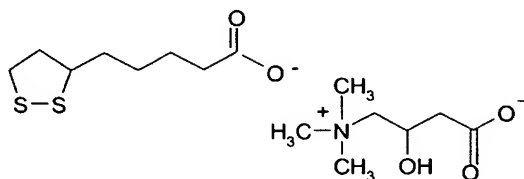
L'analisi HPLC rivela che il prodotto ottenuto è L-carnitina con tracce (circa 0.035%) di acido tiottico.

RIVENDICAZIONI:

1. Sale dell'acido tiottico con la L-carnitina avente formula:



in cui A è



in cui Y è catione di un metallo alcalino, di un metallo alcalino terroso oppure è un gruppo ammonico quaternario ;

X è A o OH⁻,

x è uguale a 0 quando Y è il catione di un metallo alcalino o un gruppo ammonico quaternario e uguale a 1 quando Y è un metallo alcalino terroso.

2. Sale secondo la rivendicazione 1 in cui Y è scelto tra Na⁺ e K⁺.
3. Sale secondo la rivendicazione 1 in cui Y è scelto tra Mg⁺⁺ e Ca⁺⁺.
4. Sale secondo la rivendicazione 1 in cui Y è un alogenuro di tetralchilammonio in cui il gruppo alchilico è C₁-C₁₀ lineare o ramificato.
5. Sale secondo le rivendicazioni da 1 a 4 in cui l'acido tiottico è in forma racema
6. Sale secondo la rivendicazione da 1 a 4 in cui l'acido è in forma otticamente attiva ed è scelto tra l'acido -R(+) o S(-)tiottico.
7. Procedimento per la preparazione di un sale secondo le rivendicazioni da 1 a 6 comprendente i seguenti stadi:

- a) si prepara una soluzione di un sale alcalino, alcalino terroso o un gruppo ammonico quaternario della L-carnitina in un alcol C_1-C_5 lineare o ramificato, detta soluzione avente una concentrazione in L-carnitina compresa tra 10% e 30% p/v,
 - b) si aggiunge lentamente la soluzione dello stadio a) ad una soluzione di Acido tiottico, avente una concentrazione compresa tra il 5% e il 15%, in un solvente scelto tra chetoni con p.e. superiore a 75°C, esteri con p.e. superiore a 75°C, acetonitrile e alcoli lineari o ramificati aventi un numero di atomi di carbonio superiore a 3, e
 - c) si isola il sale di formula (I).
8. Procedimento secondo la rivendicazione 7 in cui nello stadio a) detto alcol è metanolo.
9. Procedimento secondo le rivendicazioni 7 e 8 in cui nello stadio b) la soluzione di L-carnitina viene aggiunta alla soluzione di acido tiottico in quantità tale che nella miscela finale il rapporto molare tra acido tiottico e L-carnitina è compreso tra 0.85 e 1.15.
10. Procedimento secondo le rivendicazioni da 7 a 9 in cui lo stadio c) comprende le seguenti fasi operative:
- i) si rimuove parzialmente il solvente in cui è stata disciolta la L-carnitina per distillazione sottovuoto;
 - ii) si aggiunge lo stesso solvente in cui è stato disciolto l'acido tiottico;
 - iii) si raffredda a temperatura compresa tra 0 e 30°C;
 - iv) si separa il precipitato ottenuto.
11. Procedimento secondo la rivendicazione 10 in cui nello stadio ii) il



solvente viene aggiunto in quantità necessaria per sostituire il solvente rimosso nello stadio i).

12.Procedimento secondo le rivendicazioni 10 o 11 in cui il prodotto ottenuto nello stadio iv) viene lavato ed essiccato.

13.Composizione farmaceutica comprendente il sale secondo le rivendicazioni da 1 a 6 insieme ad adatti eccipienti e/o diluenti.

14.Integratore dietetico comprendente il sale secondo le rivendicazioni da 1 a 6 insieme ad adatti eccipienti e/o diluenti.

(ASE/pd)

Milano, li 22 Aprile 2003

p. LABORATORIO CHIMICO INTERNAZIONALE S.p.A.

il Mandatario



Dr. Diego Pallini

NOTARBARTOLO & GERVASI S.p.A.

